

کنترل نرخ تورم و رهش از میکروذرات آلزینات کلسیم تهیه شده با روش الکترواسپری توسط فرایند انجماد-رفع انجماد

علیرضا مهرگان نیکو^{۱*}، رسول کدخدایی^۲، بهروز قرآنی^۳، حسام الرزاق^۴، نیک تاکر^۵

۱- دانشجوی دکتری گروه شیمی مواد غذایی، پژوهشکده علوم و صنایع غذایی، مشهد

۲- دانشیار گروه نانوفناوری مواد غذایی، پژوهشکده علوم و صنایع غذایی، مشهد

۳- استادیار گروه نانوفناوری مواد غذایی، پژوهشکده علوم و صنایع غذایی، مشهد

۴- استادیار گروه نوآوری های غذایی، مؤسسه تحقیقاتی گیاه و غذا، نیوزیلند

۵- دانشیار دانشکده مهندسی، دانشگاه لینکلن، انگلستان

(تاریخ دریافت: ۹۴/۶/۷ تاریخ پذیرش: ۹۴/۹/۱۶)

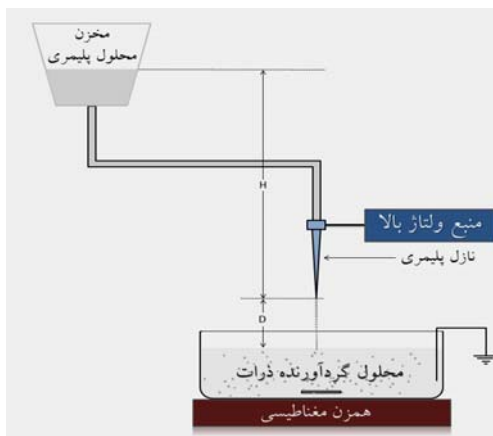
چکیده

به منظور بهبود ویژگی های ساختار ذرات آلزینات کلسیم تهیه شده با فرایند الکترواسپری جهت به تعویق اندازی نرخ تورم و رهش از آنها، از دو بسپار پلی وینیل الکل و پلی وینیل پیرولیدون به همراه فرایند انجماد-رفع انجماد در تولید میکروذرات استفاده شد و ساختار میکروهیدروژل ها با اعمال دو سیکل انجماد و رفع انجماد تقویت گردید. ذرات حاصله فاقد هرگونه تورم در اسید هیدروکلریک (pH=۱/۲) بودند. تورم ذرات در بافر فسفات (pH=۷/۴) مشخص کننده اثر قابل توجه افزودن پلی وینیل الکل و پلی وینیل پیرولیدون به همراه فرایند انجماد-رفع انجماد در به تعویق اندازی تورم ذرات بود. تورم ذرات حاصل از خشک کردن انجمادی آلزینات کلسیم پس از گذشت ۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد ۲۴۴/۶۵ درصد و تورم ذرات بهبود یافته با پلی وینیل الکل و پلی وینیل پیرولیدون تحت فرایند انجماد-رفع انجماد ۱۲۶/۳۴ درصد و تحت خشک شدن انجمادی ۱۵۲/۱۵ درصد برآورد گردید. نتایج رهش کافئین به عنوان ترکیب مدل در محیط های مذکور بیانگر به تعویق افتادن رهش در حضور پلی وینیل الکل و پلی وینیل پیرولیدون به ویژه بعد از فرایند انجماد-رفع انجماد می باشد. طیف های حاصل از FTIR نشان دهنده ریزپوشانی فیزیکی کافئین در ذرات بودند. نتایج این مطالعه نشان داد که میکروذرات آلزینات کلسیم تقویت شده با اتصالات فیزیکی ناشی از انجماد-رفع انجماد پلی وینیل الکل می توانند قابلیت کاربرد هرچه بهتر در ریزپوشانی و بهبود ویژگی های تورم ذرات و رهش ترکیبات زیست فعال و غذا داروها، با عدم به کارگیری اتصال دهنده های عرضی شیمیایی را ایجاد نماید.

کلید واژگان: هیدروژل آلزینات کلسیم، الکترواسپری، انجماد-رفع انجماد، پلی وینیل الکل، پلی وینیل پیرولیدون.

۱- مقدمه

های ساده تری نظیر الکترواسپری^۳ جهت تولید نانو/ میکرو ذرات استفاده نمود.



شکل ۱ طرح کلی الکترواسپری جهت تولید میکروذرات هیدروژل آلزینات کلسیم

یکی از مزیت های الکترواسپری این است که کنترل بالایی روی توزیع اندازه ذرات، با امکان تولید ذرات تقریباً یکنواخت وجود دارد؛ به ویژه این مورد در رهش دارو عامل مطلوبی است، زیرا توزیع یکنواخت، کنترل بیشتر و الگوهای رهش تکرار پذیرتری را ایجاد می کند [۹ و ۱۰]. در الکترواسپری ذرات می توانند پس از خروج از نازل به داخل محلول حاوی عامل اتصال دهنده ی عرضی پاشیده شوند و ذرات هیدروژل ایجاد گردند (شکل ۱)، [۱۱ و ۱۲].

پلی وینیل الکل به دلیل داشتن ویژگی های مطلوب غیرسمی بودن و غیرسرطانزا بودن در سامانه های دارویی و غذایی مورد استفاده واقع می شود. پلی وینیل الکل یک بسپار به شدت آبدوست است و پایداری پایینی در آب دارد؛ به منظور غلبه بر این نقص این بسپار باید از طریق آمیختن، کوپلیمریزه کردن، ایجاد پیوند و اتصالات عرضی غیر محلول شود. روش مخلوط های بسپاری می تواند به عنوان روشی جهت تهیه ژل های جدید آلزینات با پلی وینیل الکل مورد توجه قرار گیرد [۱۳]. پلی وینیل پیرولیدون به دلیل ایمن بودن مصرف خوراکی آن در داروسازی کاربرد زیادی دارد. این بسپار زمانی که به عنوان سامانه رهایش مورد استفاده واقع می شود زمان چرخش دارو

بعلت روند رو به رشد تقاضا برای ترکیبات طبیعی و با سازگاری زیستی، کاربرد هیدروژل های پلی ساکاریدی در صنایع غذایی دائماً در حال افزایش است. به این منظور هیدروژل ها به عنوان حامل ترکیبات زیست فعال نظیر آنتی اکسیدان های طبیعی، سلول های زنده، روغن های غیراشباع و داروها مورد استفاده واقع می شوند [۱]. پوشش در شبکه بسپاری، پایداری مواد را افزایش داده، قابلیت حل شدن آنها در مایعات بیولوژیک را بهبود می بخشد، رهش ترکیبات فعال را کنترل می نماید و توزیع یکنواخت دارو در بدن را تسهیل می کند [۲]. اتصال عرضی شیمیایی و یا فیزیکی بسپارهای آبدوست، روش معمول برای تشکیل هیدروژل ها می باشد. ویژگی های فیزیکوشیمیایی هیدروژل ها به شدت به نوع اتصال عرضی و نیز به وزن مولکولی و ساختار شیمیایی بسپار وابسته است. معمول ترین روش تولید هیدروژل ها افزودن محلول آبی آلزینات به محلول حاوی عوامل اتصال دهنده ی عرضی یونی نظیر کاتیون های دو ظرفیتی Ca^{++} می باشد [۴ و ۳]. ژل های آلزینات عموماً متخلخل هستند که این ویژگی سبب انتشار مولکول های کوچک به درون یا برون ژل می گردد [۵]. محیط خنثی درون شبکه ی زیست بسپار آلزینات، امکان به دام اندازی طیف وسیعی از ترکیبات را فراهم می آورد [۶ و ۷].

به طور معمول چندین روش مختلف در تشکیل ذرات میکرو/ نانو مورد استفاده قرار می گیرند که اغلب شامل امولسیون سازی-تبخیر، کاهش حلالیت و ترسیب به وسیله نمک-امولسیون سازی^۱، ژل شدن یونی، کواسرواسیون^۲، خشک کردن پاششی و ... می گردند. روش های بر پایه ی امولسیون گسترده ترین روش هایی هستند که در سامانه های ویژه ی رهش دارویی کاربرد دارند [۸]. روش های متداول مستلزم انجام مراحل زیاد و پیچیده هستند ولی در این میان می توان از روش

1. Salting-out/emulsification
2. Coacervation

3. Electrospraying

محلول به مدت یک شب بر روی همزن مغناطیسی هم زده شد. محلول گردآورنده با انحلال ۴ گرم کلرید کلسیم و ۴ گرم پلی وینیل پیرولیدون در ۲۰۰ میلی لیتر آب یون زدایی شده تهیه شد. کافئین به میزان یک درصد به محلول ها از ابتدای تولید اضافه گردید. تولید ذرات توسط روش الکترواسپری با استفاده از ماشین الکترواسپینینگ رومیزی شرکت الکترواسپینز (Electrospinz Ltd., New Zealand) و تحت بهترین شرایط عملیاتی که در مطالعات اولیه حاصل شده بود انجام گرفت. این شرایط عبارت بودند از ولتاژ ۸ کیلوولت، فاصله نازل تا محلول گردآورنده ۸ سانتی متر، ارتفاع مخزن بسپاری ۲۰ سانتی متر و قطر داخلی نازل پلاستیکی به میزان ۵۰۰ میکرومتر ذرات پس از تشکیل توسط صافی از محلول گردآورنده جدا شدند.



شکل ۲ ماشین الکترورسی آزمایشگاهی شرکت الکترواسپینز

۲-۲-۲- مشاهدات میکروسکوپی

ظاهر ذرات هیدروژل جهت برآورد اندازه آنها توسط میکروسکپ نوری (Leica DM 5000-D, Leica) و میکروسکپ الکترونی (Microsystems Inc., USA) بررسی گردید. مشاهده ساختار و سطح ذرات با استفاده از میکروسکپ الکترونی (JEOL NeoScope JCM-5000 bench top SEM, USA) و پس از خشک شدن انجمادی (Labconco, FreeZone 12L, UK) صورت پذیرفت. برای این منظور نمونه های خشک شده توسط پوشش دهنده ی طلا (Q150R Rotary-Pumped Sputter Coater,

در بدن را افزایش می دهد [۱۴]. یکی از روشهای تولید هیدروژل ها بدون استفاده از اتصال دهنده عرضی شیمیایی فرایند انجماد و رفع انجماد می باشد [۱۵].

کافئین به دلیل طبیعی بودن، در برخی از نوشیدنی ها و غذاها به عنوان افزودنی و به عنوان دارو یا مکمل در فرمول بسپاری از داروها مورد استفاده واقع می شود. هنگامی که کافئین در مقادیری که به طور معمول در غذاها، نوشیدنی ها و دارو ها مصرف شود، اثرات قابل ملاحظه ای را روی برخی از کارایی های انسان برجای می گذارد و بالابردن اثرگذاری همان مقدار مصرف کافئین با رهش کندتر آن در دستگاه گوارش میسر خواهد گشت (Committee on Military Nutrition Research, 2001). در پژوهش حاضر به منظور تقویت شبکه هیدروژلی میکروذرات آلژینات کلسیم و کنترل نرخ تورم آنها از بسپارهای پلی وینیل الکل و پلی وینیل پیرولیدون به همراه فرایند انجماد-رفع انجماد استفاده شده و به منظور بررسی رفتار رهش از ذرات، کافئین به عنوان ترکیب آبدوست مدل و با هدف افزایش زمان رهش آن در محیط های شبیه سازی شده معده و روده مورد ارزیابی واقع گردیده است.

۲- مواد و روش ها

آلژینات سدیم تجاری با کیفیت بالا از شرکت فابریسول آلمان (Fabrisol, Germany) تهیه گردید. کافئین، پلی وینیل الکل و پلی وینیل پیرولیدون با درجه آنالیتیکال از شرکت سیگما (Sigma Alderich, Germany) و کلرید کلسیم بدون آب، اسید کلریدریک، مونو سدیم فسفات دو آب و دی سدیم فسفات هفت آب از شرکت مرک (Merck, UK) خریداری شدند. به منظور تولید کلیه محلول های مورد استفاده از آب یون زدایی شده استفاده شد.

۲-۱- تهیه ذرات

جهت تولید محلول بسپاری ۳ درصد وزنی-وزنی آلژینات سدیم - و در مورد ذرات تقویت شده ۰/۵ درصد وزنی-وزنی پلی وینیل الکل نیز - به آب یون زدایی شده اضافه شد و

گرا د مورد ارزیابی قرار گرفت و در هر ساعت قطر ذرات توسط میکروسکپ نوری اندازه گیری شد. درصد تورم با استفاده از رابطه ذیل محاسبه گردید:

$$100 \times \frac{\text{میانگین قطر ذرات اولیه} - \text{میانگین قطر ذرات متورم در زمان مشخص}}{\text{میانگین قطر ذرات اولیه}} = \text{نسبت تورم (درصد)}$$

۲-۶- ارزیابی رهش از ذرات

رهش کافئین از ذرات در اسید کلریدریک (pH=۱/۲) به مدت ۴ ساعت و نیز بافر فسفات (pH=۷/۴) به مدت ۸ ساعت با قرار دادن آن در انکوباتور شیکر دار (۱۰۰ دور در دقیقه) در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد با قرائت جذب ۳ میلی-لیتر از نمونه و بازگرداندن آن به محیط رهش انجام گرفت. محاسبه درصد کافئین آزاد شده در هر ساعت با تقسیم عدد جذب قرائت شده به عدد جذب قرائت شده پس از خروج کامل کافئین از ذرات صورت پذیرفت.

۲-۷- طیف سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز

(FTIR)

جهت تعیین تغییرات در گروه های عاملی و بررسی برهم کنش ترکیبات موجود در ذرات طیف تبدیل فوریه مادون قرمز، نمونه ها پس از خشک شده انجمادی و نیز بعد پودر شدن در هاون توسط طیف سنج مادون قرمز (Bruker Alpha FTIR, US) بدست آمد. طیف ها در حالت عبوری و عدم موجی بین ۴۰۰ تا ۴۰۰۰ بر سانتی متر حاصل گردیدند.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- ساختار سطحی ذرات

تصاویر میکروسکپی الکترونی ذرات در شکل ۳ نشان داده شده است. همانگونه که مشاهده می شود افزودن پلی وینیل الکل و پلی وینیل پیرولیدون منجر به استحکام ذرات طی فرایند خشک شدن انجمادی می گردد به گونه ای که ذرات شکل ۳-ب در مقایسه با شکل ۳-الف ساختار سطحی خود را به خوبی طی خشک شدن حفظ نموده اند و حداقل میزان

(Quorum Technologies Ltd., UK) تحت گاز آرگون پوشش دهی شده و با ولتاژ شتاب دهنده ی ۱۰ تا ۱۵ کیلوولت تحت خلاء بالا مورد بررسی قرار گرفتند.

۲-۳- فرایند انجماد- رفع انجماد^۴

به منظور ایجاد اتصالات عرضی در شبکه هیدروژلی آلزینات-پلی وینیل الکل، ذرات پس از صاف شدن با روش Hua و همکاران (2010) تحت فرایند انجماد-رفع انجماد قرار گرفتند. برای این منظور ذرات تازه تهیه شده ی آلزینات-پلی وینیل الکل به طور مستقیم در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد و به مدت ۴۸ ساعت منجمد گردیده و سپس در دمای محیط (۲۵ درجه سانتی گراد) رفع انجماد شدند. این سیکل دو بار بر روی ذرات اعمال گردید و در نهایت ذرات در آون ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند.

۲-۴- برآورد کارایی ریزپوشانی

آزادسازی کامل کافئین از طریق افزودن سترات سدیم به میزان ۲ درصد به محلول حاوی ذرات و یک ساعت گرمخانه گذاری در بن ماری شیکردار (Hanyang Scientific Equipment Co., Ltd. Korea) در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به منظور از هم گسیختن تمامی ذرات صورت پذیرفت. مقدار کافئین با معادله خط $y = 0.0474x + 1.0 \times 10^{-9}$ ، $(R^2 = 0.9976)$ از منحنی استاندارد جذب غلظت های مشخص کافئین (۲/۵ تا ۲۵ میلی گرم در لیتر) در طول ۲۷۳ نانومتر بدست آمد و بر اساس معادله زیر کارایی محاسبه گردید:

$$100 \times \frac{\text{جرم بارگذاری شده}}{\text{جرم اولیه}} = \text{کارایی ریزپوشانی (درصد)}$$

۲-۵- ارزیابی تورم ذرات

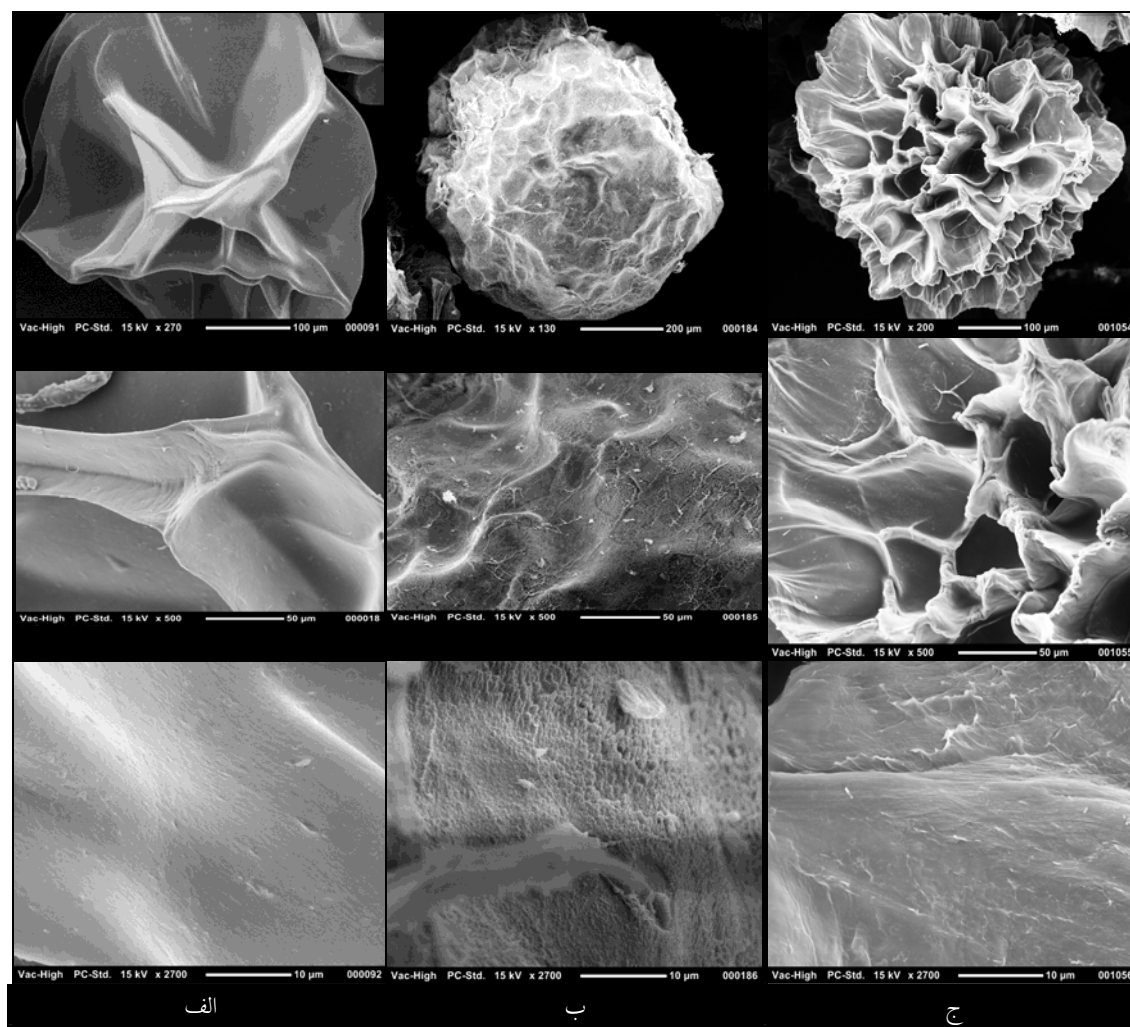
تورم ذرات خشک شده در اسید کلریدریک به مدت ۴ ساعت و نیز بافر فسفات به مدت ۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی

نیز ذرات تقویت شده با پلی وینیل الکل و پلی وینیل پیرولیدون به ترتیب به میزان ۳۷/۵ و ۵۵/۹ درصد برآورد گردید که گویای اثر گذاری دو بسیار اضافه شده در تقویت ساختار در حفظ کافتین درون ذرات می باشد. در ذرات آلژینات کلسیم تقویت شده توسط فرایند انجماد-رفع انجماد با پلی وینیل الکل و پلی وینیل پیرولیدون کارایی به میزان ۴۳/۲ درصد برآورد شد.

چروکیدگی ساختار در آنها مشاهده می شود. با اعمال فرایند انجماد-رفع انجماد که مستلزم خشک شدن نهایی ذرات در آون می باشد ساختار چروکیده گردید اما سطح ذرات در بزرگنمایی ۲۷۰۰ برابر (شکل ۳-ج) گویای کم شدن حفرات سطحی در سطح ذرات در مقایسه با نمونه ی خشک شده انجمادی می باشد.

۳-۲- کارایی ریزپوشانی

کارایی ریزپوشانی برای ذرات آلژینات کلسیم حاوی کافتین و



شکل ۳ تصاویر میکروسکوپی الف) ذرات خشک شده انجمادی آلژینات کلسیم، ب) ذرات خشک شده انجمادی آلژینات کلسیم تقویت شده با پلی وینیل الکل و پلی وینیل پیرولیدون ج) ذرات آلژینات کلسیم تقویت شده توسط فرایند انجماد-رفع انجماد با پلی وینیل الکل و پلی وینیل پیرولیدون

کربوکسیل در بخش پلی مانورونات آلژینات را نداشته و با کاهش درجه اتصالات عرضی منجر به افزایش جذب آب می گردد [۲۰] در نتیجه تورم ذرات اتصال یافته عرضی تا آنجایی که فشار اسمزی معادل نیرو های پیوندی ساختار بسپاری گردند ادامه می یابد [۷].

تغییرات میزان تورم ذرات در محلول بافر فسفات ($\text{pH}=7/4$) در شکل های ۵، ۶، ۷ و ۸ نشان داده شده است.

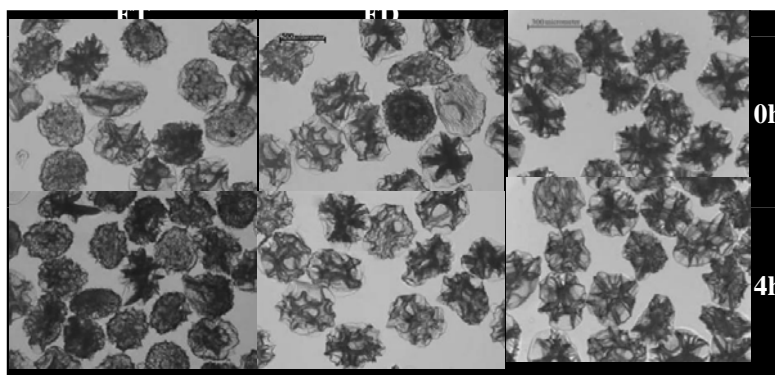
همانطور که ملاحظه می گردد با گذشت زمان ذرات متورم شده که این تورم در ذرات آلژینات کلسیم بعد از گذشت ۸ ساعت به میزان $244/65$ درصد بوده است با این حال بیش از ۹۰ درصد ذرات یکپارچگی خود را طی این مدت حفظ نموده اند.

دلیل کم شدن کارایی از دست رفتن بخشی از کافئین به دلیل فشرده تر شدن ساختار هیدروژل حین فرایند انجماد-رفع انجماد بود.

۳-۳- ارزیابی تورم ذرات در اسید هیدروکلریک ($\text{pH}=1/2$) و بافر فسفات ($\text{pH}=7/4$)

بررسی تغییر شکل ذرات در اسید هیدروکلریک $\text{pH}=1/2$ به مدت ۴ ساعت که در شکل ۴ نشان داده شده است بیانگر عدم ایجاد تورم در ذرات در فاصله زمانی یاد شده بود. دلیل عدم تورم ذرات در شرایط اسیدی می تواند به تبادل یونی پروتون-کلسیم و تشکیل آلژینیک اسید نامحلول نسبت داده شود که ورود آب به داخل شبکه را محدود نماید [۱۸ و ۱۹].

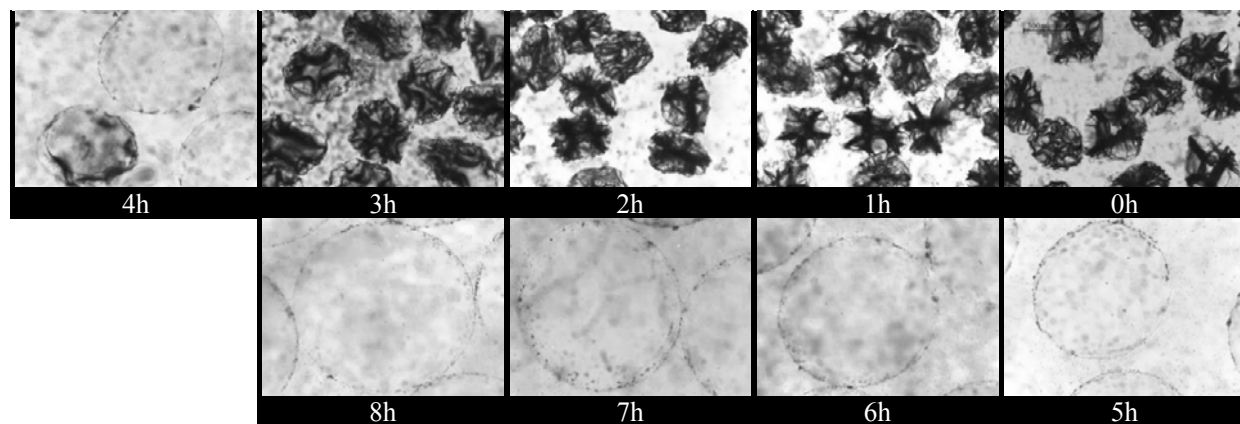
از سوی دیگر تبادل یونی بین یون های سدیم در بافر فسفات و کلسیم در ذرات رفتار تورم ذرات آلژینات کلسیم را کنترل می نماید. یون های سدیم قابلیت اتصال به گروه های



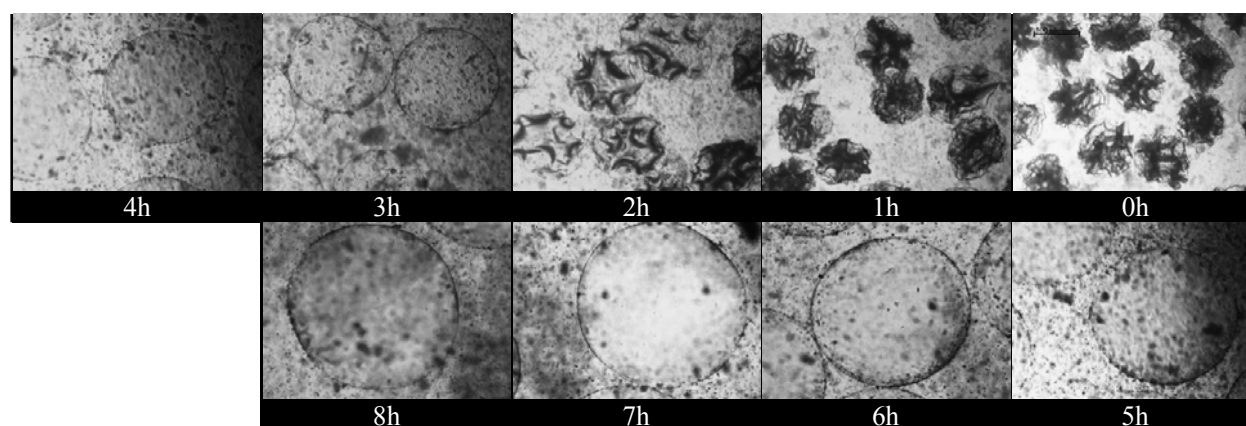
شکل ۴ بررسی تغییر شکل ذرات آلژینات کلسیم (ALG) و نیز ذرات آلژینات کلسیم تقویت شده با پلی وینیل الکل و پلی وینیل پیرولیدون خشک شده انجمادی (FD)، و بهبود یافته با فرایند انجماد-رفع انجماد (FT)، در اسیدکلریدریک ($\text{pH}=1/2$) طی مدت ۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد

شده با فرایند انجماد-رفع انجماد، این میزان به $126/34$ درصد رسید که تفاوت معنی داری را با نمونه خشک شده انجمادی و نمونه شاهد از خود نشان داد ($P<0.05$). همانگونه که در شکل ۹ به صورت شماتیک نشان داده شده است با اعمال فرایند انجماد-رفع انجماد در حضور پلی وینیل الکل با ایجاد اتصالات عرضی فیزیکی شبکه ذرات تقویت گردید.

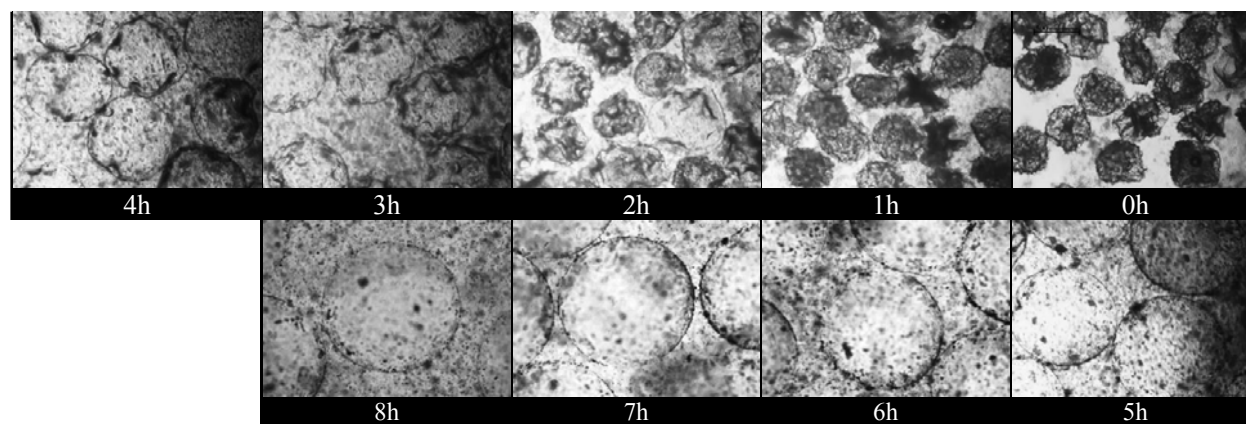
در ذرات خشک شده انجمادی آلژینات کلسیم تقویت شده با پلی وینیل الکل و پلی وینیل پیرولیدون میزان تورم $152/15$ درصد بدست آمد که تفاوت چشمگیری را با ذرات آلژینات کلسیم (نمونه شاهد) داشتند به گونه ای که تمامی ذرات بخوبی یکپارچگی خود را طی زمان آزمون حفظ نمودند. در ذرات واجد پلی وینیل الکل و پلی وینیل پیرولیدون تقویت



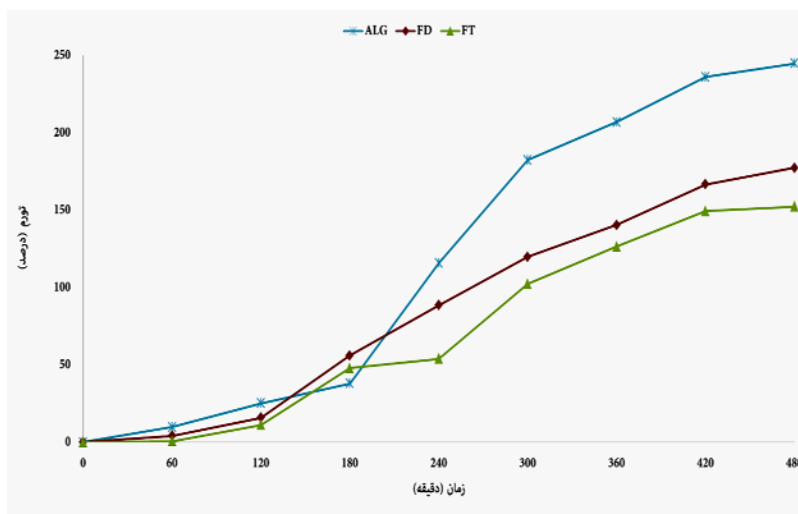
شکل ۵ تورم ذرات آلژینات کلسیم، بدون پوشش در بافر فسفات (pH=۷/۴) طی مدت ۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد



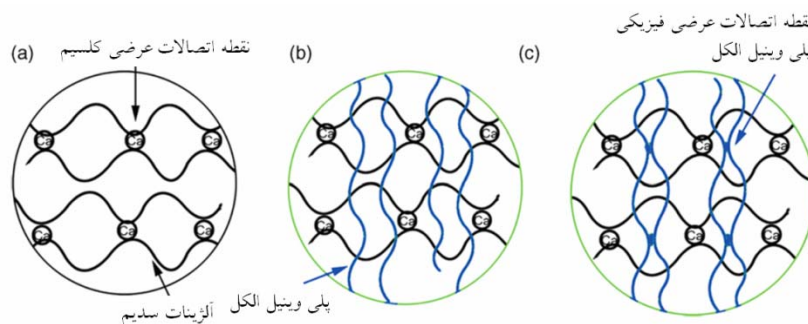
شکل ۶ تورم ذرات آلژینات کلسیم خشک شده انجمادی (FD) تقویت شده با پلی وینیل الکل و پلی وینیل پیرولیدون در بافر فسفات (pH=۷/۴) طی مدت ۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد



شکل ۷ تورم ذرات آلژینات کلسیم تقویت شده با پلی وینیل الکل و پلی وینیل پیرولیدون، و بهبود یافته با فرایند انجماد-رفع انجماد (FT) در بافر فسفات (pH=۷/۴) طی مدت ۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد



شکل ۸ تورم ذرات آلژینات کلسیم (ALG)، ذرات آلژینات کلسیم تقویت شده با پلی وینیل الکل و پلی وینیل پیرولیدون خشک شده انجمادی (FD)، و بهبود یافته با فرایند انجماد-رفع انجماد (FT)، در بافر فسفات ($\text{pH}=7/4$) طی مدت ۸ ساعت در دمای 37°C سانتی گراد

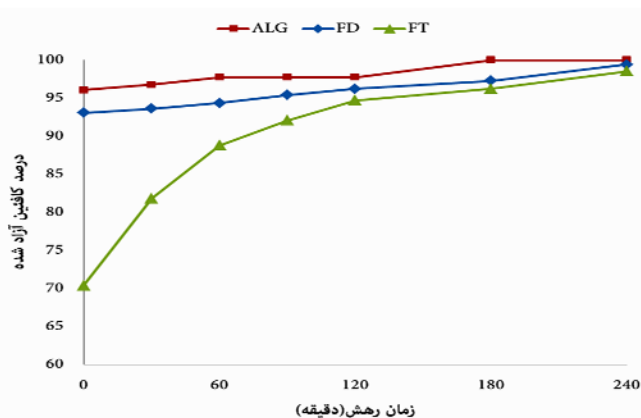


شکل ۹ ایجاد اتصالات عرضی در اثر فرایند انجماد و رفع انجماد در شبکه پلی وینیل الکل - آلژینات

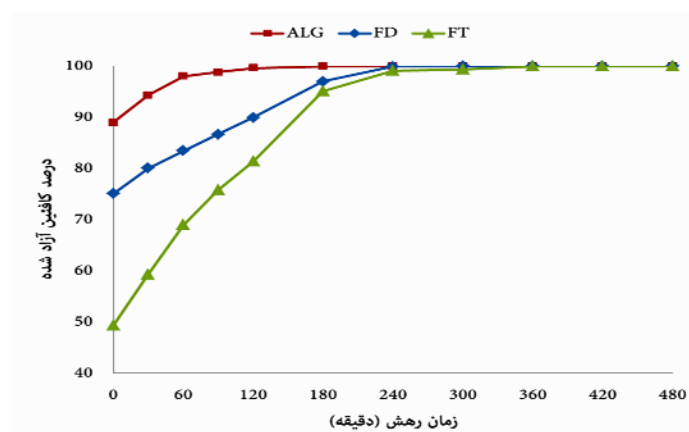
افزودن پلی وینیل الکل و نیز پلی وینیل پیرولیدون مشهود بود و نیز با اعمال فرایند انجماد-رفع انجماد این تفاوت معنی داری در دو ساعت ابتدایی رهش در محیط اسیدی و نیز در سه ساعت ابتدایی در محیط قلیایی کاملاً نمایان است. برهمکنش ناشی از ایجاد پیوند هیدروژنی بین گروه های هیدروکسیل پلی وینیل الکل و گروه های کربوکسیل پلی وینیل پیرولیدون در ذراتی که تنها تحت خشک شدن انجمادی قرار گرفته اند [۲۲] و به وجود آمدن اتصالات عرضی در ذراتی که با فرایند انجماد-رفع انجماد تقویت شده اند [۱۷] منجر به استحکام بیشتر و فشرده تر شدن ساختار ذرات شده و رهش کافئین را به تعویق انداخته اند.

۳-۴- ارزیابی رهش از ذرات در اسید هیدروکلریک ($\text{pH}=1/2$) و بافر فسفات ($\text{pH}=7/4$)

نتایج رهش کافئین به عنوان یک ترکیب مدل آب دوست از ذرات در اسید هیدروکلریک ($\text{pH}=1/2$) و بافر فسفات ($\text{pH}=7/4$) در شکل های ۱۰ و ۱۱ نشان داده شده اند. نتایج گویای رهاشدن کافئین از ذرات آلژینات کلسیم به مقدار بالا در هر و محیط اسیدی و قلیایی طی زمان آزادسازی می باشند. بالاتر بودن رهش در محیط اسیدی به حل پذیری بالاتر کافئین در این محیط مربوط می شود [۲۱]. به تعویق افتادن رهش با



شکل ۱۰ رهش کافئین از ذرات آلژینات کلسیم (ALG)، ذرات آلژینات کلسیم تقویت شده با پلی وینیل الکل و پلی وینیل پیرولیدون خشک شده انجمادی (FD)، و بهبود یافته با فرایند انجماد-رفع انجماد (FT)، در اسید هیدروکلریک ($\text{pH}=1/2$) طی مدت ۴ ساعت در دمای 37°C

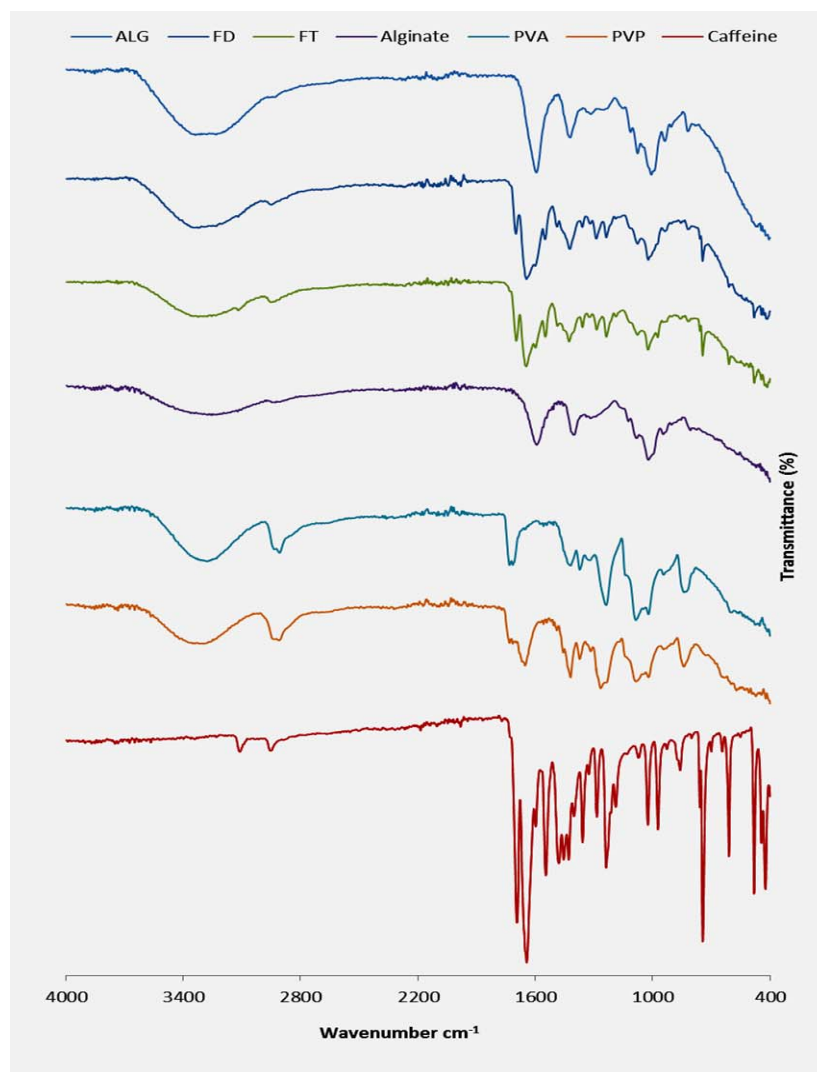


شکل ۱۱ رهش کافئین از ذرات آلژینات کلسیم (ALG)، ذرات آلژینات کلسیم تقویت شده با پلی وینیل الکل و پلی وینیل پیرولیدون خشک شده انجمادی (FD)، و بهبود یافته با فرایند انجماد-رفع انجماد (FT)، در بافر فسفات ($\text{pH}=7/4$) طی مدت ۸ ساعت در دمای 37°C

۳-۵- نتایج FTIR

شکل ۱۲ طیف های FTIR نمونه های مختلف را نشان می دهد. طیف FTIR آلژینات سدیم باندهایی را در اطراف 3260 ، 1592 و 1022 بر سانتی متر نشان می دهد که به ترتیب بعلت کشش گروه هیدروکسیل، کربوکسیل و C-O-C می باشند [۲۳]. فرایند ایجاد اتصال عرضی با کلسیم منجر به جابجایی آشکار کربوکسیل به عددهای موجی بالاتر شده است. که گویای پیوند یونی مابین کلسیم و کربوکسیل آلژینات است. پیک در 1426 بر سانتی متر مبین اتصالات آلژینات با کلسیم

بوده که در طیف ذرات حاصل ملاحظه می گردد [۲۴]. باند اطراف 1652 در PVP در ذرات FD و FT در حدود 10 بر سانتی متر به مقادیر پایین تر جابجایی پیدا کرده که گویای برهمکنش بین مولکولی بین گروه کربونیل PVP با گروه هیدروکسیل PVA می باشد. از آنجا که پیک های شاخص کافئین شامل پیک ارتعاشی C-H در 3112 بر سانتی متر و باندهای 744 و 2955 بر سانتی متر بدون تغییر در ذرات ظاهر گردیده اند عدم برهمکنش شیمیایی بین کافئین در ذرات قابل پیش بینی است [۲۵]، [۲۶].



شکل ۱۲ طیف FTIR ذرات ریزپوشانی شده کافئین و اجزاء سازنده آنها

پلی وینیل الکل می تواند ساختار ذرات را بدون استفاده از اتصال دهنده های شیمیایی تقویت نموده و ویژگی های تورم و رهش ذرات حاوی مواد زیست فعال و غذا داروها را بهبود بخشد.

۴- نتیجه گیری

الکترواسپری به عنوان روشی آسان و سریع جهت تولید ذرات میکروهیدروژل آلژینات با توزیع اندازه یکنواخت مورد استفاده قرار گرفت. به کارگیری پلی وینیل الکل و پلی وینیل پیرولیدون اثر قابل توجهی در بالا بردن مقاومت ذرات در برابر تورم در محیط قلبیایی داشت همچنین اعمال فرایند انجماد-رفع انجماد به گونه ای چشمگیر مقاومت ذرات را در این مورد افزایش داد. تقویت ساختار ذرات از طریق انجماد-رفع انجماد منجر به رهش کندتر داروی مدل کافئین گردید. روش انجماد-رفع انجماد به عنوان روشی بسیار مؤثر در ایجاد اتصالات عرضی در ساختار هیدروژل های بسپاری با کمک به کارگیری بسپاری ایمن نظیر

۵- منابع

- [1] A. Lopez Cordoba, L. Deladino, M. Martino, and A. López Córdoba, "Effect of starch filler on calcium-alginate hydrogels loaded with yerba mate antioxidants," *Carbohydr Polym*, vol. 95, no. 1, pp. 315–323, Jun. 2013.
- [2] O. Masalova, V. Kulikouskaya, T. Shutava, and V. Agabekov, "Alginate and Chitosan Gel Nanoparticles for Efficient Protein Entrapment," *Phys. Procedia*, vol. 40, no. 0, pp. 69–75, 2013.

- poly(vinyl alcohol)/sodium alginate and poly(vinyl alcohol)-grafted-poly(acrylamide)/sodium alginate blend beads," *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, vol. 65, no. 2, pp. 204–214, 2007.
- [14] D. Guowei, K. Adriane, X. Chen, C. Jie, and L. Yinfeng, "PVP magnetic nanospheres: Biocompatibility, in vitro and in vivo bleomycin release," *Int. J. Pharm.*, vol. 328, no. 1 SPEC. ISS., pp. 78–85, 2007.
- [15] C. M. Hassan and N. a Peppas, "Structure and Applications of Poly (vinyl alcohol) Hydrogels Produced by Conventional Crosslinking or by Freezing / Thawing Methods," *Adv. Polym. Sci.*, vol. 153, pp. 37–65, 2000.
- [16] Committee on Military Nutrition Research, *Caffeine for the Sustainment of Mental Task Performance*. Washington, D.C.: NATIONAL ACADEMY PRESS, 2001.
- [17] S. Hua, H. Ma, X. Li, H. Yang, and A. Wang, "pH-sensitive sodium alginate/poly(vinyl alcohol) hydrogel beads prepared by combined Ca^{2+} crosslinking and freeze-thawing cycles for controlled release of diclofenac sodium," *Int J Biol Macromol*, vol. 46, no. 5, pp. 517–523, Jun. 2010.
- [18] K. M. Manjanna, T. M. Pramod Kumar, and B. Shivakumar, "Calcium alginate cross-linked polymeric microbeads for oral sustained drug delivery in arthritis," *Drug Discov. Ther.*, vol. 4, no. 2, pp. 109–22, 2010.
- [19] K. M. Manjanna, K. S. Rajesh, and B. Shivakumar, "Formulation and Optimization of Natural Polysaccharide Hydrogel Microbeads of Aceclofenac Sodium for Oral Controlled Drug Delivery," *Am. J. Med. Sci. Med.*, vol. 1, no. 1, pp. 5–17, 2013.
- [20] S. K. Bajpai and S. Sharma, "Investigation of swelling/degradation behaviour of alginate beads crosslinked with Ca^{2+} and Ba^{2+} ions," *React. Funct. Polym.*, vol. 59, no. 2, pp. 129–140, 2004.
- [21] S. Jeevanandham and D. Dhachinamoorthi, "Drug Release Studies from *Caesalpinia pulcherrima* Seed Polysaccharide," *Iran. J. Pharm. Res.*, vol. 10, no. May 2010, pp. 597–603, 2011.
- [22] A. Bernal, I. V. O. Kuritka, and P. Saha, "Poly(vinyl alcohol)-poly(vinyl pyrrolidone) blends: preparation and characterization for a
- [3] S. Mandal, S. K. Basu, and B. Sa, "Sustained Release of a Water-Soluble Drug from Alginate Matrix Tablets Prepared by Wet Granulation Method," vol. 10, no. 4, pp. 1348–1356, 2009.
- [4] M. Davidovich-Pinhas and H. Bianco-Peled, "A quantitative analysis of alginate swelling," *Carbohydr. Polym.*, vol. 79, no. 4, pp. 1020–1027, 2010.
- [5] K. Y. Lee and D. J. Mooney, "Alginate: Properties and biomedical applications," *Prog. Polym. Sci.*, vol. 37, no. 1, pp. 106–126, 2012.
- [6] A. Rajendran and S. K. Basu, "Alginate-chitosan particulate system for sustained release of nimodipine," *Trop. J. Pharm. Res.*, vol. 8, no. 5, pp. 433–440, 2009.
- [7] G. Pasparakis and N. Bouropoulos, "Swelling studies and in vitro release of verapamil from calcium alginate and calcium alginate-chitosan beads," *Int. J. Pharm.*, vol. 323, no. 1–2, pp. 34–42, Oct. 2006.
- [8] S. Chakraborty, I.-C. C. Liao, A. Adler, and K. W. Leong, "Electrohydrodynamics: A facile technique to fabricate drug delivery systems," *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 61, no. 12, pp. 1043–54, Oct. 2009.
- [9] N. Bock, T. R. R. Dargaville, and M. a. A. Woodruff, "Electrospraying of polymers with therapeutic molecules: State of the art," *Prog. Polym. Sci.*, vol. 37, no. 11, pp. 1510–1551, Nov. 2012.
- [10] A. Jaworek and A. T. Sobczyk, "Electrospraying route to nanotechnology: An overview," *J. Electrostat.*, vol. 66, no. 3–4, pp. 197–219, 2008.
- [11] H. Park, P. H. Kim, T. Hwang, O. J. Kwon, T. J. Park, S. W. Choi, C. O. Yun, and J. H. Kim, "Fabrication of cross-linked alginate beads using electrospraying for adenovirus delivery," *Int J Pharm*, vol. 427, no. 2, pp. 417–425, 2012.
- [12] T. Suksamran, P. Opanasopit, T. Rojanarata, T. Ngawhirunpat, U. Ruktanonchai, and P. Supaphol, "Biodegradable alginate microparticles developed by electrohydrodynamic spraying techniques for oral delivery of protein," *J Microencapsul*, vol. 26, no. 7, pp. 563–570, 2009.
- [13] O. Şanlı, N. Ay, and N. Işiklan, "Release characteristics of diclofenac sodium from

- [25] M. Bhavan and G. Nagar, "CHITOSAN – SODIUM ALGINATE NANOCOMPOSITES BLENDED WITH CLOISITE 30B AS A NOVEL DRUG DELIVERY SYSTEM FOR ANTICANCER DRUG CURCUMIN Vijay Kumar Malesu , Debasish Sahoo and P . L . Nayak * ISSN 0976-4550 Materials Preparation of Chitosan-Alginate Nanocomposit," *Int. J. Appl. Biol. Pharm. Technol.*, vol. 2, no. 3, pp. 402–411, 2011.
- [26] P. Li, Y. Dai, J. Zhang, A. Wang, and Q. Wei, "Chitosan – Alginate Nanoparticles as a Novel Drug Delivery System for Nifedipine," *Int. J. Biomed. Sci.*, vol. 4, no. 3, pp. 221–228, 2008.
- prospective medical application," *MACMESE '11 Proc. 13th WSEAS Int. Conf. Math. Comput. methods Sci. Eng.*, pp. 431–434, 2011.
- [23] F. O. M. S. Abreu, C. Bianchini, M. M. C. Forte, and T. B. L. Kist, "Influence of the composition and preparation method on the morphology and swelling behavior of alginate–chitosan hydrogels," *Carbohydr. Polym.*, vol. 74, no. 2, pp. 283–289, 2008.
- [24] B. Sarmento, D. Ferreira, F. Veiga, and A. Ribeiro, "Characterization of insulin-loaded alginate nanoparticles produced by ionotropic pre-gelation through DSC and FTIR studies," *Carbohydr. Polym.*, vol. 66, no. 1, pp. 1–7, 2006.

Control of swelling and release rate of electrospray fabricated calcium alginate microparticles by freeze-thaw cycles

Mehregan Nikoo, A. R. ^{1*}, Kadkhodae, R. ², Ghorani, B. ³, Razzaq, H. ⁴, Tucker, N. ⁵

1. PhD student of food science and technology, Department of Food Chemistry, Research Institute of Food Science & Technology (RIFST), Mashhad, IRAN
2. Associate Professor, Department of Food Nanotechnology, Research Institute of Food Science & Technology (RIFST), Mashhad, IRAN.
3. Assistant Professor Department of Food Nanotechnology, Research Institute of Food Science & Technology, (RIFST), Mashhad, IRAN.
4. PhD, Scientist in Department of food innovation, The New Zealand Institute for Plant and Food Research, New Zealand.
5. Senior Lecturer in University of Lincoln, School of Engineering, Brayford Pool, Lincoln, LN6 7TS, United Kingdom

(Received: 94/6/7 Accepted: 94/9/16)

To improve structure of the electrospray fabricated calcium alginate microhydrogels in order to control the swelling and release properties, Poly (vinyl alcohol) (PVA) and poly(vinyl pyrrolidone) PVP were used and structure of the microhydrogels were reinforced by two freezing and thawing cycles. The particles did not show any swelling in HCl (pH=1.2). Swelling in the phosphate buffer (pH=7.4) showed amending effect of PVA and PVP and freeze-thaw cycles on the particles. In phosphate buffer media the freeze dried calcium alginate particles (ALG), the particles which improved by PVA and PVP (FD) and particles reinforced by freeze-thaw cycles (FT) showed swelling of 244.65, 152.15 and 126.34% respectively after 8 hours. On the other hand release rate of caffeine as a hydrophilic compound delayed in the FD and FT particles. According to the FTIR spectra, caffeine was entrapped physically in the particles. Results showed that calcium alginate particles reinforced with PVA and PVP especially those were undergone on freeze-thaw cycles could be applied for more efficient encapsulating of bioactive compounds without any chemical cross-linkers.

Key words: Calcium alginate hydrogels, Electrospray, Freeze-thaw, Poly(vinyl alcohol), Poly(vinyl pyrrolidone)

* Corresponding Author E-Mail Address: alireza.mn@gmail.com